

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca*)

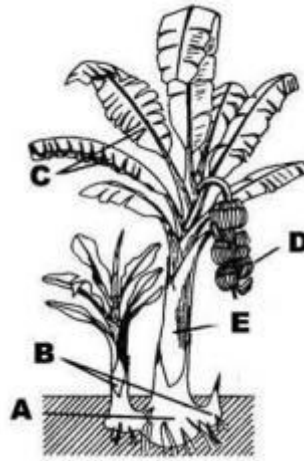
##### 2.1.1 Taksonomi Pisang Kepok

Pisang kepok termasuk ke dalam famili *Musaceae* yang berasal dari India Selatan. Klasifikasi taksonomi pisang kepok adalah sebagai berikut (Simpson, 2006; Ongelina, 2013) :

Kingdom : *Plantae* (Tumbuhan)  
Division : *Magnoliophyta* (Tumbuhan Berbunga)  
Classis : *Liliopsida* (Berkeping Satu/Monokotil)  
Order : *Zingiberales*  
Family : *Musaceae* (Suku Pisang-pisangan)  
Genus : *Musa*  
Species : *Musa paradisiaca*

##### 2.1.2 Morfologi Pisang Kepok

Tanaman pisang kepok merupakan tanaman herba tahunan yang mempunyai sistem perakaran dan batang dibawah tanah dimana tanaman ini hanya berbuah sekali (monokarpik), dan kemudian mati (Yuliasih, 2016). Secara normal, bagian-bagian dari tanaman pisang kepok (*Musa paradisiaca*) meliputi batang, anakan, daun, serta buah yang dapat di lihat pada gambar 2.1.



(Food and Agriculture Organization of the United Nations Corporate Document Repository, 2008)

Gambar 2.1

Bagian-bagian tanaman pisang (*Musa paradisiaca* L.). Keterangan : (A) Batang Pisang yang berada di bawah tanah; (B) Anakan pisang; (C) Daun Pisang; (D) Beberapa sisir buah pisang dalam satu tandan; (E) Batang semu

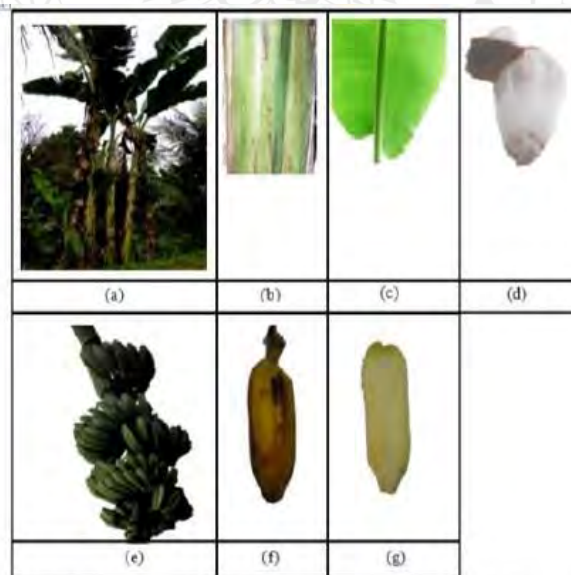
Pohon pisang memiliki akar yang rimpang dan berpangkal pada umbi batang. Akar terbanyak berada di bagian bawah tanah sampai kedalaman 75 – 150 cm, sedangkan akar yang berada di bagian samping umbi batang tumbuh ke samping atau mendatar. Dalam perkembangannya, akar tanaman pisang kepok dapat tumbuh mencapai 4 – 5 meter (Satuhu & Supriyadi, 2000).

Batang tanaman pisang kepok merupakan batang semu yang terdiri dari lembaran daun pisang yang saling tumpang tindih dengan daun baru yang akhirnya muncul bunga di bagian tengah batang (Mudita, 2012). Dengan tinggi rata-rata 221,77 cm dan diameter rata-rata 39,93 cm, batang semu tanaman pisang kepok berbentuk kerucut silindris dan berwarna hijau lumut tua dengan bercak berwarna merah tua (Yuliasih, 2016).

Daun pada tanaman pisang disusun oleh tiga komponen yaitu pelepah daun (*vagina*), tangkai daun (*petiolus*), dan lembar daun (*lamina*) (Rubatzky

dan Yamaguchi, 1998). Daun yang paling muda atau baru saja tumbuh muncul pada bagian tengah batang, sedangkan daun yang sudah tua terdesak keluar membentuk mahkota daun (Rozyandra, 2004). Permukaan daun pada tanaman pisang kepok tampak mengkilat dengan pangkal daun yang membulat pada kedua sisinya, sedangkan punggung daunnya berwarna hijau kekuningan (Ambarita & Bayu, 2015).

Perkembangan pada buah pisang terjadi tanpa pembuahan (partenokarpi) dan tidak mengandung biji. Panjang buah pisang kepok rata-rata  $\leq 15$  cm dan lebarnya berkisar antara 2,5 - 5 cm. Bentuk buahnya lurus dan ujung buahnya meruncing dengan permukaan tangkai buah yang berbulu (Ambarita & Bayu, 2015). Kulit buah pisang kepok yang asih muda berwarna hijau tua sedangkan yang sudah matang berwarna kuning keemasan (Yuliasih, 2016).



(Jurnal Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sumatra Utara, 2015)

Gambar 2.2

Karakter Morfologi Tanaman Pisang Kepok : (a) Pohon Pisang Kepok, (b) batang, (c) daun, (d) jantung, (e) tandan, (f) buah, (g) daging buah.

Sama seperti jenis pisang lain, pisang jenis kepok merupakan tanaman yang serbaguna dan mengandung banyak manfaat. Mulai dari akar hingga buahnya dapat di manfaatkan untuk kehidupan sehari-hari manusia. Secara turun temurun, manusia telah memanfaatkan pisang sebagai obat tradisional (obat sementara) sebelum dikenal adanya tindakan medis (Wardhany, 2014).

Daun pisang yang masih muda dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional yang berguna untuk menyembuhkan radang selaput lendir mata dan luka bakar (Atun et al., 2007). Pada daun pisang yang sudah tua sering dimanfaatkan oleh masyarakat pedesaan sebagai pakan ternak atau dapat dijadikan pupuk kompos. Selain daunnya, batang pisang juga dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak dan juga pupuk kompos (Prabawati et al., 2008).

Tak hanya daun dan batangnya saja, kulit pisang juga memiliki segudang manfaat. Kulit pisang kepok mengandung vitamin C, vitamin B, kalsium, protein, karbohidrat, juga serat yang cukup tinggi yang secara tidak langsung dapat dijadikan alternatif konsumsi makanan ataupun obat tradisional (Wardhany, 2014). Selain itu kulit pisang juga dapat membantu mengatasi beberapa penyakit kulit seperti psoriasis dan eksem, serta juga dapat membantu mencegah pembentukan garis-garis baru dalam pembentukan kulit keriput, dan membantu kulit lebih halus dan segar (Sarullo, 2010).

Menurut penelitian yang dilakukan *Atun, dkk.* pada tahun 2007, buah pisang yang memiliki manfaat terbanyak dimana dapat menyembuhkan menghilangkan dahak, menyembuhkan anemia, menurunkan tekanan darah,

membantu menghilangkan pengaruh nikotin, mencegah stroke, menetralkan asam lambung, membantu menetralkan suhu tubuh terutama pada ibu hamil, serta biji buah pisang dapat digunakan untuk radang selaput lendir usus dan juga sariawan. Tidak hanya kulitnya saja yang bermanfaat sebagai pengobatan alternatif, buah *Musa paradisiaca* L. Juga berkhasiat mengobati diare, disentri, lesi intestinal pada colitis ulceratif, diabetes, sariawan, uremia, nefritis, asam urat, hipertensi dan penyakit jantung (Imam dan Akter, 2011).

### 2.1.3 Kandungan Pisang Kepok

Buah pada pisang kepok mengandung protein, karbohidrat, kalsium, fosfor, zat besi, vitamin A, vitamin B, vitamin C, dan zat metabolit sekunder lainnya, yang menyediakan energi yang cukup tinggi dibandingkan dengan buah-buahan lainnya (Forster *et al.*, 2003). Selain itu buah pisang juga kaya akan mineral seperti kalium, magnesium, zat besi, fosfor, kalsium, vitamin B, vitamin B6, vitamin C, serta mengandung serotonin yang aktif sebagai neurotransmitter dalam kelancaran fungsi otak (Prabawati *et al.*, 2008).

Di samping itu, kandungan kimia pada kulit pisang juga tidak kalah dengan buahnya. Kulit pisang kaya akan pati (3%), protein kasar (6-9%), lemak kasar (3,8-11%), serat makanan total (43,2-49,7%), serta asam lemak ganda tak jenuh (PUFA) terutama asam linoleat dan  $\alpha$ -linoleat, pektin, asam amino essensial (leusin, valin, fenilalanin, dan treonin), dan juga berbagai mikronutrien (K, P, Ca, Mg) (Dinastutie *et al*, 2015). Tak hanya itu, kulit pisang kepok juga mengandung berbagai kandungan fitokimia antara lain saponin, alkaloid, flavonoid, dan tannin. Menurut penelitian yang dilakukan Aboul-Enein *et al* di tahun 2016, menyatakan bahwa terdapat 24 mg/g DW

kandungan tannin pada ekstrak metanol 80% kulit pisang kepok dan kandungan fenol dan flavonoid pada ekstrak metanol kulit pisang kepok berturut-turut ialah sebanyak 17,89 mg/g DW dan 21,04 mg/g DW.

#### 2.1.4 Mekanisme Kandungan Fitokimia Ekstrak Kulit Pisang Kepok

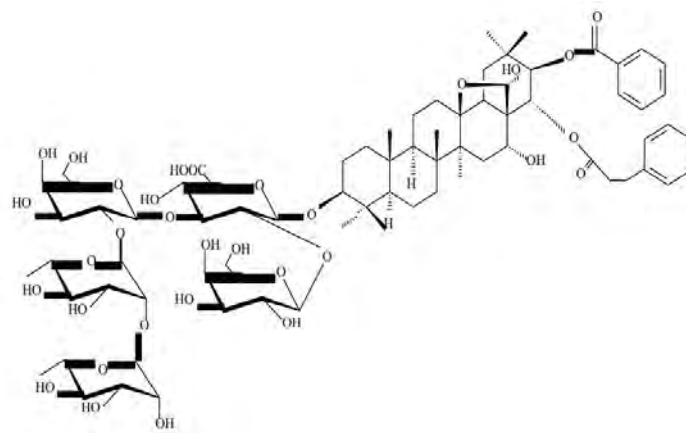
Kandungan kimia yang terdapat dalam kulit Pisang Kepok antara lain adalah *saponin, flavonoid, alkaloid, dan tannin*.

##### 1. Saponin

Saponin merupakan suatu senyawa metabolit sekunder dari suatu glikosida alamiah yang terikat dengan steroid atau triterpena, terdiri dari sapogenin yaitu bagian yang bebas dari Glikosida yang disebut juga “Aglycone” dimana sapogenin dapat mengikat senyawa sakarida sehingga terbentuk bentukan rantai. Saponin memiliki aktivitas farmakologi yang cukup luas diantaranya sebagai immunomodulator, anti tumor, anti inflamasi, antivirus, anti jamur, dan memberi efek hipoglikemik maupun efek hypokholesterol (Singab *et al*, 2015). Karena Sapogenin yang bersifat lipofilik serta sakarida yang hidrofilik maka Saponin bersifat amfifilik (amphiphilic atau surfactant properties). Dengan demikian Saponin dapat membentuk busa dan merusak membran sel karena bisa membentuk ikatan dengan lipida dari membran sel (Chaieb, 2010).

Senyawa saponin pada ekstrak kulit pisang kepok bekerja dengan mempengaruhi membran sel jamur. Saponin akan berikatan dengan ergosterol pada membran sel. Akibatnya tegangan permukaan membran akan menurun dan permeabilitas membran akan meningkat. Peningkatan permeabilitas membran akan menyebabkan kebocoran sel sehingga terjadi

denaturasi protein atau keluarnya komponen protein ke luar sel yang menyebabkan sel jamur lebih mudah mati (Dinastutie *et al.*, 2015).



(Garai, 2014)

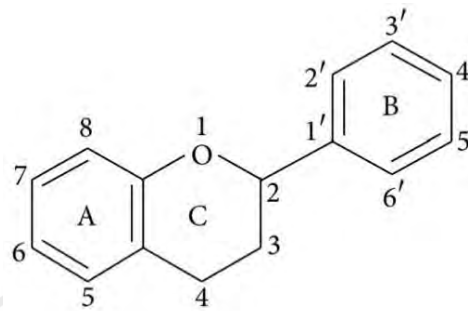
Gambar 2.3  
Struktur Kimia Saponin

## 2. Flavonoid

Flavonoid terdiri dari kelompok besar senyawa polifenol yang dapat ditemukan di sebagian besar jenis tanaman. Flavonoid juga memiliki aktivitas farmakologi yang baik bagi tubuh, antara lain ialah dapat sebagai antioksidan, sebagai senyawa hepatoprotektif, sebagai antiinflamasi, antikanker, dan sebagai zat antimikroba. Apigenin, galangin, flavone and flavonol glycosides, isoflavones, flavanones, dan chalcones merupakan beberapa jenis flavonoid yang sudah terbukti berpotensi menjadi antimikroba pada beberapa jenis bakteri seperti *Vibrio cholera*, *Shigella sp.*, *Staphylococcus aureus*, dan *Micrococcus luteus* (Kumar & Pandey, 2013).

Flavonoid memiliki mekanisme kerja yakni dengan kemampuannya membentuk kompleks dengan sterol atau protein jamur yang akan menyebabkan denaturasi ikatan protein sehingga menyebabkan membran

sel rusak dan lisis dari sel. Pada kerusakan membran sel, ion  $H^+$  dari senyawa flavonoid akan menyerang gugus fenol menyebabkan molekul fosfolipid akan terurai sehingga senyawa flavonoid menembus inti sel maka jamur tidak dapat tumbuh (Sule *et al*, 2010).



(Kumar & Pandey, 2013)

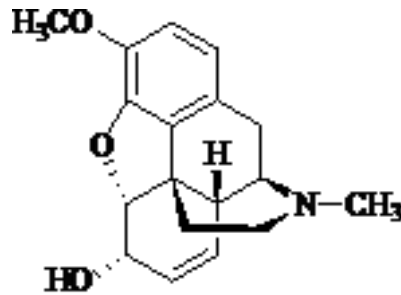
Gambar 2.4  
Struktur Kimia Dasar Flavonoid

### 3. Alkaloid

Alkaloid merupakan suatu golongan senyawa organik yang mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa. Alkaloid memiliki aktivitas biologis yang berbeda, ada yang bersifat toksik dan ada yang bermanfaat bagi manusia seperti kuinin, morfin, dan stiknin yang sudah dikenal memberikan efek sifiologis dan psikologis (Lenny, 2009)

Alkaloid bekerja dengan cara menyebabkan ruptur pada membran sel jamur dan komponen intrasel menjadi rusak sehingga air masuk ke dalam sel menyebabkan bengkak dan akhirnya sel akan mati (Okwu, 2007).





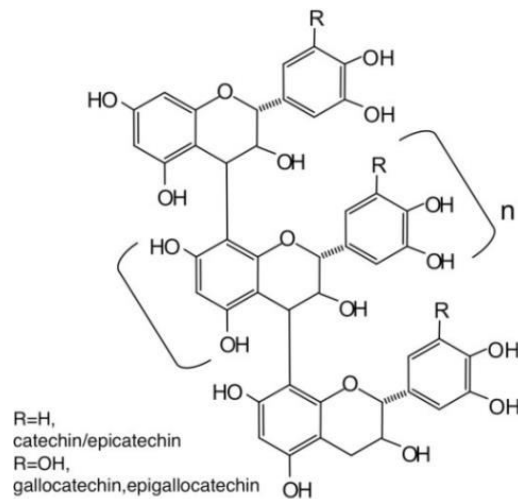
(Diaz, 2015)

Gambar 2.5  
Struktur Kimia Morfin, yang merupakan  
salah satu jenis alkaloid

#### 4. Tannin

Tannin adalah senyawa astringent yang memiliki rasa pahit dari gugus polifenolnya yang dapat mengikat dan mengendapkan atau menyusutkan protein. Tannin diklasifikasikan menjadi *hydrolyzable tannin* dan *condensed tannins*, dimana bentuk sederhana dari *hydrolyzable tannin* adalah asam tannic. Asam tannic akan membentuk kompleks chelat dengan ion logam sehingga terbentuk ikatan asam tannic-kompleks logam yang dapat digunakan sebagai antimikroba (Ismarani, 2012).

Mekanisme kerja tannin sebagai antifungal ialah dengan menghambat sintesis terpenting komponen dinding sel yaitu kitin. Kitin merupakan penyokong dinding sel jamur. Gangguan sintesis kitin menyebabkan ikut rusaknya permeabilitas membran sel karena dinding sel sebagai pelindung telah rusak sehingga akan menyebabkan masuknya air, nutrisi, dan enzim yang tidak terseleksi (Dinastutie *et al.*, 2015).



(Tsuruta *et al*, 2011)

Gambar 2.6  
Struktur Kimia Tannin pada Ekstrak Polifenol Akar Seroja

## 2.2 *Malassezia furfur*

### 2.2.1 Nama lain

*Pityrosporum ovale*, *Pityrosporum orbiculare* (Gaitanis *et al.*, 2012).

### 2.2.2 Taksonomi *Malassezia furfur*

*Kingdom* : Fungi

*Phylum* : Basidiomycota

*Classis* : Exobasidiomycetes

*Order* : Malasseziales

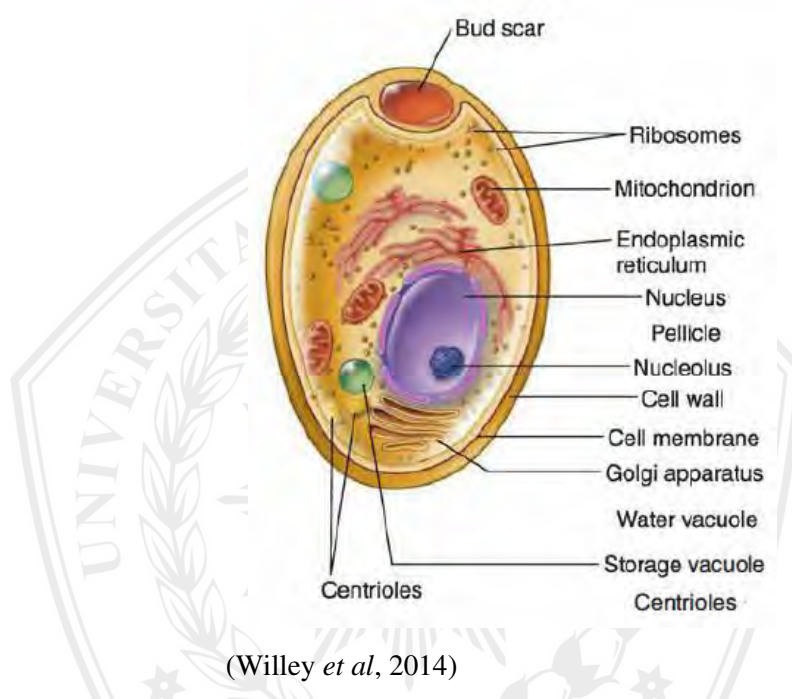
*Family* : Malasseziaceae

*Genus* : *Malassezia*

*Species* : *Malassezia furfur* (Gaitanis *et al.*, 2012)

### 2.2.3 Struktur Sel *Malassezia furfur*

*Malassezia furfur* merupakan jenis organisme seluler sehingga mampu melakukan proses metabolisme untuk melangsungkan kehidupannya, dan juga termasuk organisme eukaryotik yang memiliki struktur sel kompleks mulai dari dinding sel hingga nukleolus atau anak inti sel.

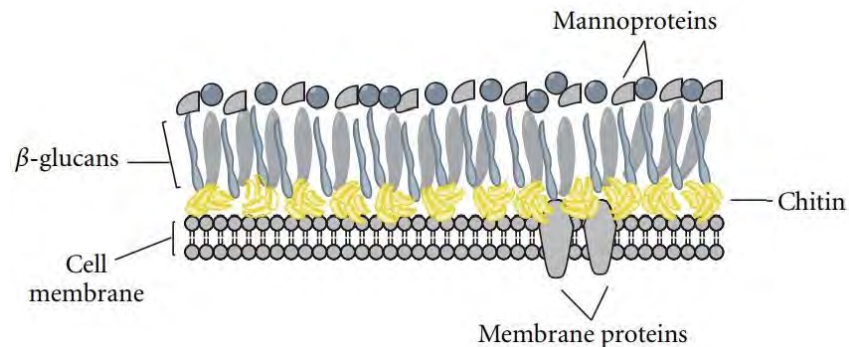


Gambar 2.7  
Struktur Sel Eukariotik pada Fungi

#### 1. Dinding Sel

Dinding sel merupakan struktur sel terluar yang memberikan kekakuan, bentuk, dan perlindungan pada struktur sel di dalamnya. Struktur dinding sel pada eukariotik bersifat lebih sederhana daripada dinding sel pada prokariotik, dimana dinding sel eukariotik mengandung selulosa, pektin, lignin, dan kitin yang hanya dapat

ditemukan pada dinding sel fungi (Goering *et al*, 2012). → mims  
pp37



(Vega & Kalkum, 2012)

Gambar 2.8  
Struktur Dinding Sel pada Fungi

## 2. Membran Sel

Suatu sel ditutup dan dipegang utuh oleh struktur membran sel, yang tersusun atas protein dan fosfolipid. Membran sel berfungsi memisahkan struktur dalam sel dengan dunia luar, serta mengatur keluar-masuknya nutrisi dan zat buangan dari suatu sel. Permeabilitas pada membran sel bersifat selektif, sehingga hanya beberapa substansi saja yang dapat masuk dan keluar dari sel (Engelkirk & Duben-Engelkirk, 2015).

## 3. Sitoplasma

Merupakan struktur intrasel yang tersusun atas cairan sitosol dan sebagian besar jaringan sitoskeleton yang berperan dalam proses biokimia dan perubahan fisik pada sel seperti perubahan viskositas dalam sel. Jaringan sitoskeleton sel terdiri dari aktin filamen atau yang lebih dikenal dengan mikrofilaran, intermediet filamen, dan

mikrotubulus. Mikrofilamen berfungsi dalam pergerakan sel seperti pergerakan amuboid, endositosis, sitokinesis, dan pergerakan antar sel. Intermediet filamen mengandung keratin dan vimentin sehingga memberi kekuatan pada sel untuk tahan terhadap tekanan dan peregangan pada dinding sel, sedangkan mikrotubulus berperan dalam pengaturan posisi setiap organel pada sel (Willey *et al*, 2014).

#### 4. Mitokondria

Mitokondria atau yang sering disebut dengan *power plants*, *power house*, atau pabrik energi merupakan salah satu organel sel terpenting yang berfungsi menyediakan energi dalam bentuk *Adenosine Triphosphate* atau yang juga dikenal dengan ATP dimana penggunaan ATP sangat diperlukan dalam metabolisme sel (Engelkirk & Duben-Engelkirk, 2015).

#### 5. Retikulum Endoplasma

Retikulum Endoplasma (RE) pada sel di bagi menjadi 2 jenis yaitu RE kasar yang terikat dengan ribosom yang berperan dalam transpor protein dan RE halus yang tidak terikat dengan ribosom yang berperan dalam transpor lipid (Willey *et al*, 2014).

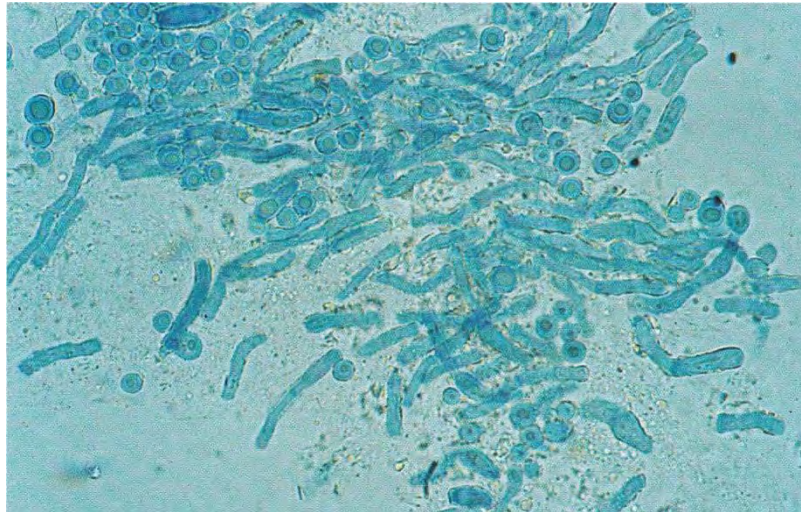
#### 6. Nukleus

Nukleus atau yang disebut juga dengan inti sel juga memegang peranan penting dalam setiap aktivitas sel. Nukleus berperan dalam mengontrol segala fungsi dari setiap organel sel dan. Terdiri dari 3 komponen yaitu nukleoplasma, membran nukleus, dan kromosom. Nukleoplasma tersusun atas matrix gelatin yang merupakan

komponen dasar dari nukleus. Membran nukleus yang mengitari nukleus berfungsi sebagai pintu keluar dan masuknya molekul dari sitoplasma ke nukleus. Kromosom mengandung protein dan molekul DNA yang didalamnya terdapat gen yang berisikan informasi genetik dari suatu spesies atau individu yang di bawa oleh 2 tipe *Ribonucleic Acid* (RNA) yaitu *Ribosomal Ribonucleic Acid* (rRNA) dan *Transfer Ribonucleic Acid* (tRNA). Ketika nukleus di lihat kembali menggunakan mikroskop elektron, terdapat suatu area gelap didalam nukleus yaitu Nukleolus atau anak inti yang merupakan tempat dimana rRNA di produksi (Engelkirk & Duben-Engelkirk, 2015).

#### 2.2.4 Morfologi *Malassezia furfur*

*Malassezia furfur* (*M. furfur*) merupakan salah satu spesies jamur yang bersifat lipofilik dan bersifat dimorfik dimana jamur ini dapat memiliki dua bentuk yaitu *yeast* dan *mold* (Bramono dan Budimulja, 2015). Jamur *Malassezia* memiliki struktur morfologi yang khas dan dapat dibedakan dengan jenis fungi yang lain. Secara mikroskopik, sel *Malassezia* berupa sel-sel bulat, bertunas, berdinding tebal, serta hifanya pendek dan tidak lurus serta memiliki spora bulat berkelompok yang berukuran 3-8  $\mu\text{m}$ . *Malassezia furfur* juga menghasilkan konidia yang sangat kecil (mikrokonidia) pada hifanya. Selain itu pada pemeriksaan mikroskopik juga akan terlihat adanya kombinasi pertumbuhan fase hifa dan yeast sehingga terlihat bentuk seperti *sphagetti* dan bola-bola bakso yang sebenarnya merupakan untaian spora dan hifa yang saling bergabung satu sama lainnya. (Adiyati dan Pribadi, 2014).



(Wolff dan Johnson, 2009)

Gambar 2.9

Gambaran mikroskopik dengan perbesaran 40x dari preparat KOH *Malassezia furfur* yang memperlihatkan adanya bentuk hifa dan yeast

#### 2.2.5 Manifestasi Klinis *Malassezia furfur*

*Malassezia furfur* atau *M. furfur* merupakan normal flora opportunistik pada tubuh yang pada keadaan tertentu dapat bersifat patogen dan menyerang imunitas tubuh sehingga timbul penyakit sistemik maupun non sistemik. Beberapa penyakit non sistemik yang ditimbulkan *M. furfur* antara lain adalah pityriasis versicolor, dermatitis seboroik, dermatitis atopik, psoriasis, onikomikosis, dan malassezia folikulitis, sedangkan pada penyakit sistemik yang disebabkan *M. furfur* biasa menjangkiti pasien neonatus, anak, maupun imunokompromais (Gaitanis *et al*, 2013).

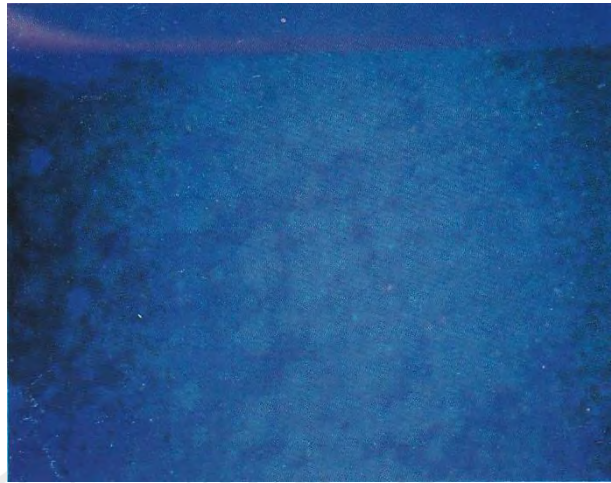
#### 2.2.6 Pemeriksaan Penunjang

##### 2.2.6.1 Pemeriksaan Fluoresensi

Pemeriksaan ini menggunakan lampu wood yang memancarkan sinar ultraviolet pada lesi hingga didapatkan warna fluoresensi



kekuningan akibat dari metabolit asam dikarboksilat (Bramono dan Budimulja, 2015).



(Abdullah, 2009)

Gambar 2.10

Fluoresensi berwarna kekuningan pada bercak hipopigmentasi dari pityriasis versicolor yang disinari oleh lampu wood

#### 2.2.6.2 Pemeriksaan Mikroskopis

Pada pemeriksaan mikroskopis langsung digunakan sediaan kerokan kulit yang diambil menggunakan skalpel atau dengan merekatkan selotip dan kemudian ditetesi dengan larutan KOH 20%. Dibawah mikroskop akan ditemukan hifa dan miselium yang pendek disertai spora yang bulat atau oval yang dinamakan blastospora

#### 2.2.6.3 Pemeriksaan Histopatologi

Organisme penyebab PV lebih sering berdiam pada lapisan kulit stratum korneum. *Malassezia furfur* dapat dideteksi dengan menggunakan *hematoxylin-eosin* (HE). Pada lapisan epidermis menunjukkan akantosis dan hiperkeratosis ringan, sedangkan pada



lapisan dermis didapatkan suatu *mild perivascular infiltrate* yang tampak nyata. (Burkhart, 2017).

### 2.2.7 Pengobatan

Pengobatan pada infeksi *Malassezia furfur* dapat dilakukan dengan memperbaiki faktor predisposisi atau dengan terapi medikamentosa. Meningkatkan higienitas tubuh merupakan salah satu cara preventif dan kuratif dalam menangani infeksi *Malassezia furfur*. Pemberian obat-obatan topikal maupun sistemik juga dapat digunakan untuk terapi infeksi *Malassezia furfur*. Pemberian obat antimikotik seperti selenium sulfide (selsun) dalam bentuk sampo 1,8% atau bentuk losio 2,5% yang dioleskan tiap hari selama 15-30 menit dapat mengatasi penyakit pityriasis versikolor atau panu yang disebabkan oleh *Malassezia furfur* (Tansil Tan dan Reginata, 2015). Tetapi untuk pemakaian ketokonazole oral sangat tidak dianjurkan, meskipun memiliki efek antifungal yang lebih bagus, efek terapi tersebut tidak sebanding dengan efek samping dari pemakaian ketokonazole oral yaitu merusakkan serius pada hepar, timbul masalah pada kelenjar adrenal, dan interaksi obat yang berbahaya. (Burkhart, 2016). Pemberian obat topikal golongan azol seperti mikonazol, klotrimazol, isokonazol, dan ekonazol juga dapat diberikan selama 2 minggu hingga gejala gatal menghilang.

Pada terapi sistemik dapat menggunakan sediaan oral karena lebih sedikit memakan waktu daripada dengan pemakaian obat topikal. Fluconazole, itraconazole, pramiconazole merupakan terapi oral yang dianjurkan baik pada pityriasis versikolor maupun malassezia folikulitis (Bramono dan Budimulja, 2015).

### 2.2.8 Pencegahan

Infeksi dari *Malassezia furfur* dapat ditekan dengan cara memperbaiki higiene diri dengan benar seperti mandi 2x dalam sehari pada suhu tropis dengan menggunakan sabun diseluruh tubuh agar kadar minyak tubuh yang di sekresikan kelenjar sebacea dapat berkurang. Mengganti pakaian yang telah di pakai dalam beberapa juga merupakan salah satu cara dalam menekan infeksi *Malassezia furfur*. Selain itu pemakaian 50% propilen glikol dalam air juga dapat digunakan dalam sebagai preventif terhadap PV, sedangkan pada daerah endemik dapat menggunakan itrakonazole 200 mg sekali sebulan atau pemakaian sampo selenium sulfid sekali dalam seminggu (Partogi, 2008).

### 2.3 Uji Kepekaan Terhadap Antimikroba secara *In Vitro*

Dasar penentuan suatu zat antimikroba secara *in vitro* adalah dengan mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) dan juga Kadar Bunuh Minimal (KBM). Kadar Hambat Minimal adalah konsentrasi terendah suatu antimikroba yang menunjukkan hambatan pertumbuhan mikroba dengan jelas, baik dilihat secara visual maupun dengan alat semiotomatis dan otomatis. Kadar Bunuh Minimal adalah konsentrasi terendah suatu antimikroba yang dapat membunuh hingga 99,9% mikroba pada biakan selama waktu yang ditentukan (Brooks *et al*, 2013).

Pengukuran KHM dan KBM dapat diukur menggunakan 2 metode yaitu metode dilusi dan difusi. Metode dilusi bertujuan untuk menentukan aktivitas antimikroba secara kuantitatif yaitu dengan cara menghitung jumlah koloni mikroba setelah diberi suatu zat antimikroba, sedangkan metode difusi bertujuan untuk menentukan aktivitas antimikroba secara

kualitatif yaitu dengan cara melihat diameter penyebaran mikroba setelah diberi suatu zat antimikroba (Soleha, 2015).

### 2.3.1 Metode Dilusi Tabung

Metode ini digunakan untuk menentukan konsentrasi minimal suatu zat antimikroba yang dibutuhkan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme tertentu dengan menggunakan media agar maupun *broth*, dan biasanya dinyatakan dalam satuan  $\mu\text{g/ml}$  (Polapa, 2015).

#### 1. Metode Dilusi Perbenihan Cair

Dilusi perbenihan cair terdiri dari mikrodilusi dan makrodilusi. Pada makrodilusi volume perbenihan yang digunakan ialah lebih dari 1 ml, sedangkan pada mikrodilusi volume perbenihan yang digunakan hanya 0,05 ml hingga 0,1 ml. Penentuan KHM dapat diukur menggunakan metode dilusi perbenihan cair, dimana dapat dilakukan pengenceran antimikroba dengan menurunkan konsentrasi setengahnya misalnya mulai dari 16, 8, 4, 2, 1, 0,5, 0,25  $\mu\text{g/ml}$  (Koneman, 2016).

Larutan zat antimikroba dilarutkan dengan pelarut yang sesuai, kemudian diencerkan dengan medium cair berturut-turut pada tabung yang disusun dalam satu deret hingga konsentrasi terkecil yang dikehendaki. Tiap tabung (yang berisi campuran media dan larutan zat antimikroba dengan berbagai konsentrasi tersebut) ditanami dengan suspensi mikroba yang mengandung  $10^6$  sel

mikroba CFU/mL. Selanjutnya dibiakan dalam media tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam (Lenny,2016).

Pertumbuhan mikroba diamati dengan cara melihat kekeruhan didalam tabung tersebut, yang disebabkan oleh inokulum mikroba. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media baru tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM (Dewi,2010)



(Putri, 2006)

Gambar 2.11

Hasil uji antimikroba dengan metode dilusi cair setelah diinkubasi

## 2. Metode Dilusi Perbenihan Agar

Larutan zat antimikroba dibuat pengenceran menurunkan konsentrasi setengahnya sehingga didapatkan berbagai variasi konsentrasi. Hasil pengenceran larutan tersebut dicampur dengan media

agar yang telah dicairkan kemudian dijaga pada suhu 45°C- 50°C dengan perbandingan antara larutan zat antimikroba dan media adalah 1 : 9 (Herlianawati,2007). Setelah itu, media campuran tersebut dituang kedalam cawan petri steril dan dibiarkan dingin. Lalu pada tiap cawan petri ditanamkan dengan suspensi mikroba yang mengandung  $10^6$  CFU/mL, kemudian media cawan petri tersebut diletakkan dalam posisi terbalik dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

### 2.3.2 Metode Difusi Cakram

Prinsip dari metode difusi cakram adalah sebagai berikut : antimikroba dijenuhkan ke dalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung antimikroba tertentu ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba yang akan diuji, kemudian diinkubasikan 37°C selama 24 jam. Selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba. Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut (apakah isolat mikroba termasuk kategori sensitif atau resisten terhadap obat), dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu :

- a. Cara Kirby Bauer, yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) disekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh (*National Committee for Clinical Laboratory Standart*) NCCLS. Dengan tabel NCCLS ini dapat diketahui kriteria sensitif, intermediet dan resisten.

- b. Cara Joan-Stokes, yaitu dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara kontrol mikroba yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat mikroba yang diuji (Dzen, 2010)

